

厚生労働科学研究研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と
発生動向調査に関する研究

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 上 原 至 雅

平成19 (2007) 年4月

目 次

総括研究報告書：輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究 上原 至雅（国立感染症研究所）	1
健康危険情報通報：カナダ・ブリティッシュコロンビア州のバンクーバー島東岸地方 における病原真菌 <i>Cryptococcus gattii</i> のアウトブレイク情報	14
分担研究報告書：コクシジオイデス症およびヒストプラスマ症など輸入真菌症国内発生状 況の調査、肺結核疑診例に潜在するヒストプラスマ症のスクリーニング に関する研究、およびヒストプラスマ症の血清診断法に関する研究 亀井 克彦（千葉大学真菌医学研究センター）	15
分担研究報告書：我が国の洞窟環境における <i>Histoplasma capsulatum</i> の分布調査 菊池 賢、佐々木 崇（順天堂大学医学部感染制御科学）、 染谷 孝（佐賀大学農学部生物環境学科）、浦田健作（大阪 経済法科大学科学技術研究所）	24
分担研究報告書：輸入真菌症および日和見真菌症の迅速診断法の開発 槇村 浩一（帝京大学医真菌研究センター）	29
分担研究報告書：病原糸状菌検出を目的とした Fluorescence in situ hybridization (FISH) 法の検討 篠崎 稔（東邦大学医療センター大森病院病理部） 中山晴雄、渋谷和俊（東邦大学医学部病院病理学講座）	34
分担研究報告書：悪性腫瘍患者における深在性真菌症の頻度 上 昌広、久住英二（東京大学医科学研究所）	39
分担研究報告書：国内コウモリ・グアノの菌叢解析と新興感染症の診断法開発 杉田 隆（明治薬科大学）	43
分担研究報告書：真菌感染抵抗性の解析と治療の評価系の開発 —真菌分子による好中球活性化— 鈴木 和男（国立感染症研究所）	48
分担研究報告書：真菌の病原性および薬剤耐性機構の解明 新見 昌一、上原 至雅（国立感染症研究所）	54
研究協力者による研究報告書：日本人口動態統計(2001年度)に示された白血病死者に 占める深在性真菌症罹患者数—日本病理剖検輯報の解析結果からの推計値— 久米 光（北里大学医学部病理学講座） 渋谷和俊（東邦大学医学部病院病理学講座）	63
研究協力者による研究報告書：千葉大学真菌医学研究センターで保存している <i>Coccidioides</i> spp.の形態学的観察 佐野 文子（千葉大学真菌医学研究センター）	69

平成18年度 厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)

「輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究」名簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
主任研究者	上原 至雅	国立感染症研究所・生物活性物質部	部長
分担研究者	亀井 克彦	千葉大学・真菌医学研究センター	教授
分担研究者	菊池 賢	東京女子医科大学・感染症科	講師
分担研究者	楨村 浩一	帝京大学医・真菌研究センター	助教授
分担研究者	渋谷 和俊	東邦大学医学部・病院病理学講座	教授
分担研究者	上 昌広	東京大学医科学研究所・探索医療ヒューマンネットワークシステム部門	客員助教授
分担研究者	杉田 隆	明治薬科大学・微生物学教室	助教授
分担研究者	鈴木 和男	国立感染症研究所・生物活性物質部・第三室	室長
分担研究者	新見 昌一	国立感染症研究所・生物活性物質部・第一室	室長
研究協力者	山口 英世	帝京大学医学部	名誉教授
研究協力者	倉島 篤行	NHO 東京病院・臨床研究部	部長
研究協力者	久米 光	北里大学医学部・病理学講座	講師
研究協力者	佐野 文子	千葉大学・真菌医学研究センター	助教授
研究協力者	染谷 孝	佐賀大学農学部・応用生物科学科・土壌環境学研究室	助教授
研究協力者	石川 淳	国立感染症研究所・生物活性物質部・第四室	室長

平成18年度厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

総括研究報告書

輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に
関する研究 -----1

上原 至雅 (国立感染症研究所生物活性物質部)
亀井 克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)
菊池 賢 (東京女子医科大学感染症科)
榎村 浩一 (帝京大学医真菌研究センター)
渋谷 和俊 (東邦大学医学部病院病理学研究室)
上 昌広 (東京大学医科学研究所)
杉田 隆 (明治薬科大学微生物学教室)
鈴木 和男 (国立感染症研究所生物活性物質部)
新見 昌一 (国立感染症研究所生物活性物質部)

主任研究者

上原至雅 国立感染症研究所生物活性物質部長

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

総括研究報告書

輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究

主任研究者 上原至雅 国立感染症研究所 部長

研究要旨：(1) 輸入真菌症の国内発生状況については、コクシジオイデス症およびヒストプラズマ症がその後も恒常的に発生し、本年度はパラコクシジオイデス症、マルネツフェイ型ペニシリウム症例も見られた。潜在的ヒストプラズマ症患者を検索する目的で行った結核疑診例の抗ヒストプラズマ抗体検査では、113 例中 9 名（8.0%）が陽性を呈し、内 1 例で病理組織学的にヒストプラズマ症が確認された。(2) ヒストプラズマの国内検出を試みるため、26 ヶ所の洞窟・風穴から採取されたコウモリ・グアノ 94 サンプルの菌相解析を継続して行ったが、全てのサンプルから検出されなかった。しかしながら、88%の洞窟からトリコスポロンが分離された。本菌は夏型過敏性肺臓炎の原因抗原であることから、入洞に伴う呼吸器症状は本菌が関与している可能性が改めて示された。(3) 深在性真菌症の国内発生状況については、悪性腫瘍患者における真菌感染症の実態を日本病理学会の剖検輯報をもとに調査した。白血病患者のアスペルギルス感染頻度が高く増加しているが、消化器癌や呼吸器癌に真菌感染症を合併する患者実数が実際には多いことが明らかになった。(4) 分生子による気中汚染を防止し輸入真菌症ならびに深在性真菌症の起因菌となる糸状菌を安全に操作するための培養管を開発した。診断法の開発については、ヒストプラズマ症診断のための新規抗原抽出法を確立し、得られた抽出物から新規抗原候補タンパク質の検索を行った。病理細胞診検体に FISH 法を応用することにより、アスペルギルス属における菌種レベルでの正確な判別が可能となることが推測された。(6) 真菌由来糖たんぱく質による血管炎には、サイトカインと連動した活性化好中球の活性酸素が血管傷害を起こすことが示唆されているが、培養条件により、真菌由来糖たんぱく質の分子構成に変化が生じ、好中球活性化、補体や炎症性サイトカインの変動に影響を示すことがわかった。またモデル酵母の薬剤排出に関わる ABC タンパク質 Pdr5p について、その阻害剤で免疫抑制剤の FK506 に非感受性となった Pdr5p を多数取得した。Pdr5p に生じたアミノ酸変異により、Pdr5p と FK506 との相互作用部位が推定された。(7) 本年度は、カナダ・ブリティッシュコロンビア州のバンクーバー島東岸地方における病原真菌 *Cryptococcus gattii* のアウトブレイク情報を入手し、厚生労働省健康危機管理調整室に健康危険情報として通報した。

分担研究者：

	上 昌広	東京大学医科学研究所・探索医療ヒューマンネットワークシステム部門・客員助教授
亀井克彦	千葉大学真菌医学研究センター・教授	
菊池 賢	順天堂大学医学部大学院感染制御科学 COE・講師	杉田 隆 明治薬科大学・微生物学教室・助教授
槇村浩一	帝京大学医真菌研究センター・助教授	鈴木和男 国立感染症研究所・生物活性物質部・第三室・室長
渋谷和俊	東邦大学医学部病院病理学講座・教授	新見昌一 国立感染症研究所・生物活性物質部・第一室・室長

1. 輸入真菌症の実態調査

A. 研究目的

わが国の輸入真菌症の実態に関するこれまでの研究から、輸入真菌症の症例数は全体として増加傾向にあり、その中心がコクシジオイデス症およびヒストプラズマ症であること、コクシジオイデス症ではアリゾナにおける感染者が多かったことなどを示してきた。一方感染症法の対象となっているコクシジオイデス症以外の輸入真菌症では実態把握が困難であることなど懸念が大きく、引き続き実態調査が必要と考えられた。

B. 研究方法

症例は前回と同様の方法で収集した。すなわち当センターに対し真菌症のコンサルテーション、菌株の同定、抗体の測定などを目的として、主治医より情報が寄せられた症例、醫學中央雑誌、Medline などより報告症例を検索し、これを感染症法 4 類報告と照らし合わせて確認した。症例の内容に関しては、必要に応じて主治医に直接問い合わせを行ない詳細を確認した。

C. 研究成果

1) コクシジオイデス症

総症例数は 53 例となった。2006 年は 4 例が確認された。これはこれまでの最高症例数を記録した前年度より若干の減少を示した。しかし、全体の経過としてもこれまでの右肩上がりの増加傾向が持続していることが明らかとなった。2005 年のような死亡例は見られなかった。感染地の観点から見ると、これまで増加してきていたアリゾナが減少し、4 例中 3 例がカリフォルニア、残り 1 例がメキシ

コであり、2 大流行地域としてのカリフォルニアの重要性が再認識された。

2) ヒストプラズマ症

2006 年のヒストプラズマ症症例数は 2005 年よりわずかに増加し、4 例認められた。総計は 52 例となった。5 年ごとの症例数は、緩やかな増加傾向にあると考えられた。感染地は 2 例は東南アジアで、残りはメキシコおよびガーナが 1 名ずつと考えられた。4 例中 3 例が AIDS を基礎疾患としており、内 1 名は死亡した。AIDS は我が国で増加を続けていることから今後注意が必要と考えられた。

3) パラコクシジオイデス症およびその他の輸入真菌症

2006 年には 2003 年以來 3 年間見られなかったパラコクシジオイデス症の発症が見られ、計 19 例となった。患者はブラジルからの労働者であり、1991 年から 1997 年にかけて出現した流行時と同じ特徴が認められた。その他の輸入真菌症では、マルネツフェイ型ペニシリウム症が 1 例認められた。本例は我が国 3 例目となるが、菌の分離に成功した初めての例である。

D. 考察

前回の調査で指摘されたコクシジオイデス症およびヒストプラズマ症がその後もコンスタントに国内で発症していることが確認された。特に注目されるのは AIDS を基礎疾患とする輸入真菌症であり、ヒストプラズマ症では 4 例中 3 例が、またマルネツフェイ型ペニシリウム症の 1 例も AIDS を基礎疾患として発症したと考えられた。ヒストプラズマ症のうち 1 例は死亡しており、我が国における AIDS 患者の増加とあわせ、重要な傾向と考え

られた。

コクシジオイデス症のうち1例は膿気胸を呈し、本症を疑わないまま開胸手術をされたため、術後に診断がついて後、院内感染対策と感染拡大の防止に奔走する結果となった。幸い感染拡大は今のところ認められていないが、このようなことが繰り返されれば医療施設の機能が麻痺することが予想される。医療従事者への啓蒙の重要性が示された。

ヒストプラズマ症、コクシジオイデス症を中心に、今後もわが国での輸入真菌症の増加は継続することが予想され、医療機関に対する情報の徹底が必要と思われた。

2. 肺結核疑診例に潜在するヒストプラズマ症のスクリーニングに関する研究

A. 研究目的

これまでの研究より、本邦におけるヒストプラズマ症の約18%に該当する海外渡航歴が見られていないことが明らかとなっている。これは輸入真菌症としてはきわめて例外的であり、コクシジオイデス症、パラコクシジオイデス症などほかの疾患で見ることが出来ない特徴といえる。一方、ヒストプラズマ症は、1) 軽症例では自然治癒例がある、2) 临床上、特徴的所見に乏しい、などの特徴があるため、正診を得られなくても治癒したりあるいは死亡に至ることにより、結果的に看過されてしまった症例が多数存在する可能性が考えられる。そこで、臨床像が近似し誤診されやすい疾患を対象に、ヒストプラズマ症が混入している可能性を検討した。

B. 研究方法

具体的疾患として、ヒストプラズマ症と臨床像や胸部X線写真像が類似している肺結核症疑診症例を対象とした。具体的には明らかな肺結核症を除外するため、「临床上、肺結核症を疑われながらも、結核菌の存在が確定できなかった症例」を対象とした。協力病院に依頼し、同条件に合致する患者113名の血清を収集した。血清の収集にあたっては、必要に応じて倫理委員会の了承を得た。

ヒストプラズマ症のスクリーニングには、本研究でも用いてきた抗体測定法（免疫拡散法およびIgMラテックス凝集法）を用い、血清を対象として測定した。

C. 研究成果

被検者113名からそれぞれ1検体ずつ採取、検討した。その結果、陽性はID法で9名(8.0%)、LA法で0名であった。また、疑陽性(弱陽性)はID法で5名(4.4%)、LA法では0名であった。

ID法にて陽性を示した9名のうち1名(全体の0.9%)は、ヒストプラズマ症であったことが病理学的に確認された。そのほかの陽性患者については、主治医に結果を報告したところ、2名で臨床的にヒストプラズマ症の可能性が考えられるとの見解であった。これらはいずれも「原因の明確でない肺炎」の臨床像を呈していた。

D. 考察

今回の検討で、少数とはいえ真性のヒストプラズマ症が結核疑診例の中から発見されたことは、多くのヒストプラズマ症症例が肺結核症と誤診されたまま看過されている、という我々の仮説を支持するものであり、きわめ

て重要な問題を提起している。

今後、今回明確な結論に至らなかった陽性例や偽陽性例について、特に疑わしい症例を中心に画像その他の専門家を交えて詳細な検討に関して検討を行うとともに、早急に、検討対象の症例数を拡大し、広範な検討を行う必要がある。さらに現在用いられている抗体検出法にはその検出能力に限界があることから、次項にて検討を進めている改良抗体検出法を用いて再検査を行うことも含め、早急な検討が必要と考えられる。

3. 国内コウモリ・グアノの菌叢解析と新興感染症の診断法開発

A. 研究目的

Histoplasma capsulatum を起因菌とするヒストプラズマ症は主要な輸入真菌症の一つであるが、国内感染と推定される症例が少くない。南米を中心とした環境調査から本菌はコウモリあるいはその堆積糞(グアノ)からしばしば分離されている。このことから平成16年度に国内の洞窟に生息するコウモリの堆積糞の菌叢を解析した。*Histoplasma* は検出されなかったが、夏型過敏性肺臓炎の原因抗原である *Trichosporon* が高頻度に検出された。本年度も継続して国内洞窟から採取したコウモリグアノから *Histoplasma* の検出を試みた。また、新興感染症の一つであるトリコスポロン症の起因菌 *T. asahii* の非培養検出法の開発を行い、新規な病原真菌の分離を行った。

B. 研究方法

1) コウモリグアノからの *Histoplasma* の検出

a) コウモリグアノサンプル

本研究班分担研究者である順天堂大学菊池賢

先生より分与頂いた94検体(26洞窟)を実験に供した。

b) *Histoplasma* の検出

約1gのグアノにブレインハート インフュージョンブロースを加え27°Cで3日間培養、および滅菌生理食塩に懸濁し、真菌DNAを抽出した。昨年度に構築した *Histoplasma* DNA 特異的 probe/primer を用いた real-time PCR を用いて *Histoplasma* DNA を検出した。

c) グアノサンプル中の真菌叢解析

約0.5gのグアノにYMブロース(含、ペニシリン、ストレプトマイシン、クロラムフェニコール)を加え27°Cで1日培養し、培養液を同寒天培地に塗抹した。得られた酵母様コロニーの ITS1-5.8S-ITS2-D1/D2 26S rDNA 塩基配列解析を行ない、当該菌株の同定を行なった。

2) 臨床検体からの *Trichosporon asahii* の検出

a) 患者血清

血液培養によりトリコスポロン症と診断された21患者の血清を用いた。

b) Real time PCR を用いた *T. asahii* の検出

rRNA 遺伝子の IGS1 上に *T. asahii* 特異的な primer および TaqMan probe を設計した。PCR 増幅された IGS1 領域を pCR 2.1 プラスミドに挿入し、 10^1 から 10^8 copy までの希釈系列を用いて検量線を作製した。測定機器は AB 7500 システムを用いた。

c) LA test

Serodirect Eiken Cryptococcus test を用いて抗原検出を行った。

3) 新規病原真菌の分離

菌学的解析

タイ人患者血液より分離された酵母を実験に供した。ITS1-ITS2-D1/D2 26S rDNA の塩基配

列から分子系統解析を行い、また EIKEN kit により薬剤感受性を調べた。

C. 研究結果

1) コウモリグアノからの *Histoplasma* の検出
96 検体から *Histoplasma* は検出されなかった。しかしながら、平成 16 年度に続いて *Trichosporon* が高頻度で分離された。96 検体中、71 (76%)、26 洞窟中 23 (88%) から分離された。*Trichosporon* は 5 clades に大別されるが、Ovoides clade 以外のすべての clade から検出された。分離された菌種は系統樹として Fig. 1 に示す。

2) 臨床検体からの *Trichosporon asahii* の検出
T. asahii のみを検出できる primer/probe を設計した。 10^1 – 10^8 /mL のプラスミド濃度では $r^2=0.999$ の直線的な検量線が得られた。また、*Cryptococcus neoformans* や *Candida albicans* をはじめとした他の病原真菌 DNA とは、反応しなかった。21 検体中 16 検体が LA 反応陽性(1:4–1:64)となった。LA 反応陰性の 5 検体を含めた全検体とも real-time PCR では陽性となった。また、LA 反応による PS 抗原価とプラスミド数には良好な相関性が認められた($r^2=0.9097$) (Fig. 2)。

3) 新規病原性真菌の分離

rDNA の塩基配列に基づく分子系統解析から、*Candida* 属に位置する新種と判断され、*Candida pseudohaemulonii* sp. nov. と命名した (Fig. 3)。本株はアムホテリシン B およびアゾール薬 (FCZ, ITZ, MCZ) に耐性を示した。形態を Fig. 4 に示す。

D. 考察

平成 16 年度より継続的に国内コウモリグアノ中からの *Histoplasma* の非培養系による検出を試みている。本年度は本邦で発症例のあった岡山県をサンプルリングの場所に選んだ。阿哲台の洞窟を中心に 28 ヶ所からサンプルリングしたが、*Histoplasma* は検出された。しかしながら、高頻度で *Trichosporon* が分離されたことと平成 16 年度の結果と併せると本邦の洞窟熱には *Trichosporon* が深く関与していると推定された。

Trichosporon asahii を起因菌とする深在性トリコスポロン症は予後が著しく不良である。特に、近年ではミカファンギンの投与によりブレイクスルー感染症としての報告が増加している。本法は抗原検出法にくらべて感度が高いことから、新規診断法としての利用が期待される。

日和見真菌感染症の起因菌は多様化の一途である。これは医療的背景にも起因するが、同定技術の向上が大きく関わっている。この度、見出した *C. pseudohaemulonii* は *C. haemulonii* type 1, 2 と系統枝を形成していた。これらの菌種もアムホテリシン B およびアゾール薬に耐性であることから、系統と薬剤感受性が相関する興味ある例である。なお、本邦では本菌の分離は確認されていない。

E. 結論

Histoplasma は検出できなかったが、症例が存在することから今後も継続的に分離を試みる必要がある。また、臨床応用可能なトリコスポロン症起因菌の非培養系定量検出法を提供した。日和見真菌感染症の起因菌は多様化の一途であることから、網羅的にこれらを検出するシステムの構築が必要である。

4. 悪性腫瘍患者における深在性真菌症の頻度

A. 研究目的

白血病剖検例の 30%程度に真菌症を認め、白血病の化学療法後、或いは骨髄移植例の 50%が真菌感染症に罹患するとの報告もある。一方、固形癌患者では、白血病などの造血器悪性腫瘍と比較して、抗癌化学療法の治療強度が低く、原疾患および治療による骨髄抑制の程度が軽度であり、日和見感染症の頻度は少ないと考えられていた。しかしながら、固形癌における真菌感染症の実態は不明であった。近年は化学療法の進歩により、これらの固形癌にも積極的な高強度の抗癌化学療法がおこなわれるようになってきており、これにより日和見感染症の起因菌や頻度も変化している可能性がある。そこで、癌患者における真菌感染症の実態を明らかにすることを目的とし、本研究を行った。

B. 研究方法

患者背景

日本病理学会の病理剖検輯報を用い、1990年、1994年、1998年、2002年度の剖検データを収集した。病理剖検輯報では、発行年の前年度のデータが記載されるため、1991年、1995年、1999年、2003年発行の輯報データベースを用いた。必要なデータは、データベースから電子データとして抽出した。

病理診断で癌を診断された症例について、カンジダ属、アスペルギルス属、クリプトコッカス属、接合菌の 4 種の真菌による感染症について調査研究した。

診断方法

癌および真菌症は、剖検した病理医により、肉眼的もしくは組織学的に診断された。真菌症の診断は、病理医の知識、および用いた診断方法により、診断精度に差があることが考えられる。

疾患分類

癌および真菌症は、『疾病及び関連保健問題の国際統計分類』（International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems）に基づき分類した。1994年以降のデータは 10 版（ICD-10）に基づき分類し、1990年のデータは 9 版（ICD-9）に基づいて分類した後、相当する ICD-10 の項目に振り分けた。

C. 研究結果

剖検数

悪性新生物の原発臓器別の剖検数の推移を図 1 に示す。剖検数は、全般として減少傾向にある。全体の剖検率は 4.7%であるのに対し、甲状腺癌、皮膚癌、前立腺癌、白血病、リンパ腫における剖検率は高く、乳癌では低かった。

ICD-10	Primary disease site	Number of autopsies				Frequency of deaths of autopsy (%)	
		1990	1994	1998	2002		
C00-C14	Lip, oral cavity & pharynx	418	337	386	273	5618	4.9
C15, C16, C18-C20, C22-C25	Digestive organs	12071	9178	8435	7702	170628	4.5
C32-C34	Respiratory organs	4152	3265	3004	2737	57705	4.7
C43-C44	Skin	129	126	126	140	1075	13.0
C50	Breast	533	437	397	326	9895	3.3
C53-C56	Female genital organs	868	567	509	488	9536	4.3
C61	Prostate	836	741	842	977	8418	11.6
C67	Bladder	417	351	306	542	5412	5.7
C73	Thyroid	676	559	511	502	1427	35.2
C81-C85	Malignant lymphoma	1049	692	678	680	8444	8.2
C91-C95	Leukemia	1222	911	791	727	7018	10.4
	Total	20100	15561	14541	13371	285184	4.7

図1 固形癌、悪性リンパ腫、白血病における真菌症の総数

真菌症の実数および頻度（括弧内）を年次別に固形癌、リンパ腫、および白血病について集計し、図2に示した。固形腫瘍では、頻度は低いですが、症例数が多いため、実数では造血器悪性腫瘍よりも多い。また、全ての癌において、1994年以前と比較して、1998年以降に真菌症の頻度が倍増している。

図2

Year	1990	1994	1998	2002
Solid cancer	205 (1.1%)	122 (0.9%)	334 (2.6%)	284 (2.4%)
Lymphoma	54 (5.1%)	28 (4.0%)	78 (11.5%)	66 (9.6%)
Leukemia	149 (12.2%)	108 (11.9%)	206 (26.0%)	148 (20.4%)

疾患カテゴリ別真菌症起因菌の推移

悪性新生物の発生した臓器系統別に、真菌症の実数を調査し、図3に示した。

図3

ICD-10	Primary disease site	Candidiasis				Aspergiosis			
		1990	1994	1998	2002	1990	1994	1998	2002
C00-C14	Lip, oral cavity and pharynx	3	4	8	4	1	3	5	3
C15, C16, C18-C20, C22-C25	Digestive organs	62	37	75	57	36	21	82	66
C32-C34	Respiratory organs	16	10	34	26	20	12	49	32
C43-C44	Skin	1	0	0	1	1	0	1	0
C50	Breast	4	0	3	1	4	2	2	4
C53-C56	Female genital organs	6	4	7	0	4	1	8	7
C61	Prostate	8	2	17	8	2	6	15	16
C67	Bladder	3	2	2	8	1	2	6	5
C73	Thyroid	6	2	6	8	2	2	4	9
C81-C85	Malignant lymphoma	21	7	27	29	24	20	46	31
C91-C95	Leukemia	54	29	59	35	76	66	128	102

ICD-10	Primary disease site	Cryptococcosis				Mucormycosis			
		1990	1994	1998	2002	1990	1994	1998	2002
C00-C14	Lip, oral cavity and pharynx	1	0	1	1	1	1	0	0
C15, C16, C18-C20, C22-C25	Digestive organs	9	5	14	18	5	0	2	2
C32-C34	Respiratory organs	1	1	1	2	0	0	4	0
C43-C44	Skin	0	0	2	0	0	0	0	0
C50	Breast	0	0	1	0	0	0	0	1
C53-C56	Female genital organs	2	0	1	1	0	0	0	0
C61	Prostate	2	0	3	0	0	2	0	1
C67	Bladder	0	0	0	0	0	0	0	0
C73	Thyroid	1	1	1	3	3	2	0	1
C81-C85	Malignant lymphoma	3	0	1	4	6	1	4	2
C91-C95	Leukemia	4	2	5	2	15	11	16	9

D. 考察

本研究は、白血病同様、悪性リンパ腫、固形癌のいずれにおいても、真菌症が問題であることを明らかにした。

これまで、白血病および骨髄異形成症候群における真菌症が注目されていたが、リンパ腫や固形癌患者における真菌感染症の情報は少なかった。しかしながら、本研究ではリンパ腫における真菌症の罹患率は白血病の半分と高く、固形癌でも白血病の1/10の頻度で真菌症を合併している。今後、リンパ腫や固形癌患者における真菌症の臨床、病理像に関するさらなる研究が必要である。

悪性リンパ腫では、化学療法に伴う顆粒球減少の程度は白血病より軽度だが、リンパ腫自体および高用量ステロイドを使用することによる免疫不全が問題となりうる。本研究ではリンパ腫患者の10%が真菌症を有していた。このことは、終末期リンパ腫患者において真菌症がcommonな合併症であることを示している。悪性リンパ腫における真菌症の起因菌はアスペルギルスの頻度が高く、この状

況は白血病と同様である。しかしながら、悪性リンパ腫では白血病と比較してカンジダ症の頻度が相対的に高いということが特徴的である。この理由は明らかではないが、リンパ腫では抗真菌薬の予防的投与や経験的治療がおこなわれる頻度が低いことと関係すると考えられる。

固形癌患者における真菌症の頻度は 2.4%と、白血病患者における頻度の 1/10 程度であった。固形癌患者における真菌症の頻度を調査した先行研究における頻度は 1.7%であり、本研究と同等であった。また、本研究において、固形癌の癌種別の真菌症発症頻度に大きな差はなかった。このことは、抗癌治療を行わないような癌種においても真菌症が合併することを意味し、胆癌患者が免疫抑制状態にあるという考えを支持する。起因菌は、カンジダとアスペルギルスが同程度の頻度であり、癌種による明らかな偏りは認められなかった。

真菌症は、発熱および局所症状により進行癌患者の QOL を損ねている可能性がある。しかし、腫瘍医の多くはこの可能性を認識すべきである。本研究は、真菌症が進行癌患者の合併症であり、真菌症対策が症状緩和治療の一環として有用である可能性を示している。

94 年から 98 年にかけて、全ての癌種において真菌症の頻度が増加しているが、98 年から 02 年にかけては増加していない。真菌症の発症がそのような変化をするとは考えにくい。したがって、真菌症の診断法に大きな変化があったことが示唆される。その理由として、95 年から 98 年にかけて深在性真菌症に対する血清学的診断法、分子生物学的診断法、画像診断法の開発が進んだことが考えられる。診断法の進歩により、真菌症の見逃しが減少したため、真菌症の頻度が増加したものと考

えられる。また、臨床医が積極的に深在性真菌症を疑うに従い、病理医も注意して剖検を行うようになったため、剖検診断の率も向上し、一層の真菌症の増加に繋がったと考えられる。

病原菌ごとの経年変化をみると、カンジダ症は 1990 年から 2002 年の間に頻度は増加していない。一方、アスペルギルス症は全ての癌種で増加している。このことは、カンジダ症と比較してアスペルギルス症に対する有効な予防法、治療法が確立されていないことを示唆する。ポリコナゾール、ミカファンギンなど新規抗真菌剤の登場により、アスペルギルス症の頻度は低下することが期待される。

本研究の限界として、真菌症の罹患臓器について詳細な記載が剖検輯報に無く、今回の調査では詳しく調べられなかった。深在性真菌症と表在性真菌症が区別されておらず、これらは生命予後に与える影響が全く異なるため、何らかの方法でより詳しく調べることが必要である。本研究は剖検データを用いたため、対象患者にバイアスが存在する。また、真菌症の組織診断は時に難しく、本研究では真菌症の頻度を過小評価している可能性がある。

E. 結論

真菌感染症は造血器悪性腫瘍のみならず、固形癌においても重大な合併症である。

5. 深在性真菌症罹患患者数—日本病理剖検輯報の解析結果からの推計値—

A. 研究目的

近年、造血器疾患や癌腫あるいは臓器移植や造血幹細胞移植例における重篤な深在性真菌感染例の増加が指摘されている。

このように、量的また質的に新たな様相を示しつつある深在性真菌症のわが国における現状について、日本病理剖検輯報を対象に検索し、その概要について前年度の本研究報告書で報告した。今回、前年度に報告した解析結果から、我が国で深在性真菌症が最も高い頻度で見られる白血病患者のうち、実際にどれ程の人が死亡時に深在性真菌症に罹患し、どれ程の人が当概感染症で死亡したか、または当概感染症が死因に大きく関わったか推計値として算出することを試みた。

B. 研究方法

検索対象および方法

検索対象：日本病理剖検輯報（日本病理学会編）を検索対象としたもののうち、2001年度における白血病（含：骨髓異形成症候群 MDS）剖検例を対象とした解析結果¹⁾ および日本人口動態統計（2001年度）²⁾ に記載された性別・死因（死因基本分類）別死亡者のうち白血病および MDS による死亡者数を推計値算出の対象とした。なお、日本人口動態統計で表記してある白血病病型分類は病理剖検輯報の解析に用いた白血病病型分類に比較してかなり細かく分類されているが、本報告における推計値算出の基本となる病型が病理剖検輯報における病型別頻度であることから、人口動態で類別されている白血病病型をそれぞれ剖検輯報における白血病病型に帰属させた。

真菌症の重篤度の基準：剖検輯報に記載されたもののうち、真菌症が、1. 主病変（死因にもっとも支配的となった疾患名）および番号に○が付された副病変（直接死因となった副病変）として記載された症例、2. 真菌性菌血症、3. 真菌性敗血症、4. 全身性真菌症、5. 真菌性両側性気管支肺炎（肺炎）、および 6. 真菌による罹患臓器が脳を含んだ 2 臓器系以上、あるいは 3 臓器系以上の症例を重篤型とした。これらの病型のものは真菌症が直接死因かまたは死因に大きく関わるものである。なお、ここに云う臓器系とは消化器系、呼吸器系、循環器系および腎・尿路系の 4 臓器系および生殖系、神経系、内分泌系ならびに筋・運動系を一括したその他の臓器系の 5 臓器系である。

C. 成績

1. 人口動態統計における白血病患者の病型別死亡人数

人口動態統計の性別・死因（死因基本分類）別死亡数のうち、コード No. C90.1 および C91-C95 の範疇に入る白血病患者数 6,966 名、コード No. D-46 の範疇に入る、いわゆる骨髓異形成症候群 (MDS) による死亡者 2,010 名、計 8,976 名の病型別内訳を表 1 に示した。

急性骨髄性白血病が最も多く、約 37% を占め、次いで MDS が 22.4%、成人 T 細胞性白血病 12%、急性リンパ性白血病および慢性骨髄性白血病が夫々 8.6% および 8.4%、急性白血病 5.2% が主なものであった。

2. 白血病患者（人口動態統計）に占める深在性真菌症罹患患者数の推計値

日本病理剖検輯報の解析から、白血病の病型によって深在性真菌症の発生頻度が異なる

ことから、人口動態統計にみる病型別死亡者数に剖検例における病型別にみた真菌症の発生頻度を乗じ、病型別死亡者に占める真菌症罹患患者数を算出した。ここに算出された人数の総和は 2,409 名、また、白血病剖検例にみられた真菌症の発生頻度の平均値 (25.07%) を乗じた人数は 2,250 名であった (表 2-1)。剖検例の検索において症例数の多い病型ほど真菌症の発生頻度が高い傾向にあったことから、上記算出人数のうち病型別に算出した人数の総和である 2,409 名を推計値とした。

剖検例の解析結果より、起因真菌別に重篤型の占める頻度が異なることから、上記の真菌症罹患患者推計人数 2,409 名の起因真菌別罹患患者数を算出した。すなわち 2,409 に剖検例における起因真菌別頻度を乗じて各々の人数を算出した結果、個々の頻度を乗じて得られた人数の総和は 2,408 名と、当然ながら 2409 名に近似する人数であった (表 2-2)。

次いで、上記の白血病死者のうち死亡時に何らかの真菌症に罹患していたであろう 2,408 名の起因真菌別算出人数に、剖検例における起因真菌別にみた重篤例の頻度を乗じ、白血病死時に重篤な真菌感染を続発していたであろう人数を算出した。各起因真菌別重篤感染例の算出人数の総和、重篤例の発生頻度の平均値で求めた人数、ともに 1,556 名であった。

D. 結語

結語に代えて、今回の検索成績を図 1 に纏めてみた。ちなみに、2001 年度の人口動態統計に集計記載された全死亡者にみられた真菌による死亡者の男女別、起因真菌別内訳を参考として示した。今回のごとき試みは他に類をみないものであり、我が国における深在性真菌症の疫学的動向をみる上で有益な情報と

なろうことを指摘したい。今後は、全ての基礎疾患、入院死亡者数を対象に解析する予定である。

参考文献

1. 日本人口動態統計 (厚生労働省大臣官房統計情報局編)、2001.
2. 久米 光、山崎敏和、阿部美知子、田沼弘之、奥平雅彦、岡安 勲: 白血病 (MDS を含む) 剖検例における内臓真菌症の疫学-日本病理剖検輯報 (1990、1994、1998、2002 年版) の解析-. 日本医真菌学会誌. 47: 15-24, 2006.

表1 白血病死者(人口動態統計 2001 年)の病型別内訳

A-10 Leukemia	2001 年度、人口動態にみる病型別死亡人数
Code No Diagnostic type of leukemia/MDS	
B-49 Acute leukemia	471
B-50 Chronic leukemia	13
B-51 Acute myeloid leukemia	3,321
B-52 Chronic myeloid leukemia	758
B-53 Acute lymphatic leukemia	770
B-54 Chronic lymphatic leukemia	212
B-55 Monocytic leukemia	40
B-56 Blastic leukemia	9
B-57 Other leukemia	297
B-58 Adult Tcell leukemia	1,075
B-59 Myelodysplastic syndrome	2,010

人口動態で類別されている病型を剖検例で規定した病型に類別した場合に、その病型に帰属される白血病死者(人口動態統計)の人数。

Code No.は剖検例の検索集計時に規定した病型のコード No.

表 2-1 白血病病型別頻度からの推計値

日本病理剖検輯報(2001 年度)における病型別真菌症の症例数			A 2001 年度、人口動態 にみる病型別死亡人数	B 剖検例における 真菌症の発現頻度	C (A × B)
白血病病型	症例数(頻度)	真菌症例数(頻度)			
1.急性白血病	55 (5.3%)	12/55 (21.8)	471	0.218	102.68=103
2.慢性白血病	8 (0.8%)	1/8 (12.5)	13	0.125	1.63= 2
3.急性骨髄性白血病	357 (34.4%)	106/357 (29.7)	3,321	0.297	986.34=986
4.慢性骨髄性白血病	78 (7.5%)	13/78 (16.7)	758	0.167	126.59=127
5.急性リンパ性白血病	93 (9.0%)	20/93 (21.5)	770	0.215	165.55=166
6.慢性リンパ性白血病	39 (3.8%)	6/39 (15.4)	212	0.154	32.65= 33
7.単球性白血病	41 (4.0%)	4/41 (9.8)	40	0.098	3.92= 4
8.芽球性白血病	38 (3.7%)	4/38 (10.5)	9	0.105	0.95= 1
9.成人Tリンパ性白血病	113 (10.9%)	28/113 (24.8)	1,075	0.248	266.60=267
10.その他の白血病	29 (2.8%)	4/29 (13.8)	297	0.138	40.99= 41
11.骨髄異形成性白血病	186 (17.9%)	62/186 (33.3)	2,010	0.338	679.38=679
					C 2,409
計	1,037 (100%)	260/1,037(25.07)	8,976	0.2507	D 2,250

C;白血病死者のうち、剖検例における病型別頻度を評価した人数。D;白血病剖検例における頻度の平均値で算出した人数。

病型別症例数にかなりの差があり、しかも症例数の多い病型ほど頻度が高いことからCの数値を推計値とする。

表 2-2 起因真菌別頻度からの推計値

起因真菌	日本病理剖検輯報における起因 真菌別症例数 (頻度)	人口動態統計における白血病患者の起因真菌別罹患患者数
<i>Aspergillus</i>	141/260(54.2)	2,409 × 0.542 = 1305.68 = 1306
<i>Candida</i>	44/260(16.9)	2,409 × 0.169 = 407.12 = 407
<i>Cryptococcus</i>	5/260(1.9)	2,409 × 0.019 = 45.77 = 46
Zygomycetes	24/260(9.2)	2,409 × 0.092 = 221.63 = 222
その他の真菌	1/260(0.4)	2,409 × 0.004 = 9.64 = 10
起因真菌不明	33/260(12.7)	2,409 × 0.127 = 305.94 = 306
重複感染例	12/260(4.6)	2,409 × 0.046 = 110.81 = 111
計		A 2, 408
計	260/260(100)	2,409 × 1.00 = B 2,409

A: 剖検例における起因真菌別頻度を表 3-1 の推計値 2,409 をもとに起因真菌別死亡数を算出したものである。
(剖検例で起因真菌別頻度が異なる結果であったことから、かかる算出法が妥当と考えます)

B: 単純に平均値で算出したものある。

表 2-3 起因真菌別にみた重篤型の占める頻度からの推計値

起因真菌	日本病理剖検輯報における重篤例			人口動態統計における白血病患者
	症例数		(%)	
Agent	非重篤例	重篤例	(%)	
<i>Aspergillus</i>	45	96	96/141 (68.1)	1306 × 0.681 = 889.38
<i>Candida</i>	25	19	19/ 44 (43.2)	407 × 0.432 = 175.82
<i>Cryptococcus</i>	0	5	5/ 5 (100)	46 × 1 = 46
Zygomycetes	5	19	19/ 24 (79.2)	222 × 0.792 = 175.82
その他の真菌	0	1	1/ 1 (100)	10 × 1 = 10
起因真菌不明	15	18	18/ 33 (54.5)	306 × 0.545 = 166.77
重複感染例	2	10	10/ 12 (83.3)	111 × 0.833 = 92.46
計	92	168	168/260 (64.6)	2408 × 0.646 = A=B=1556

* 項の A は重篤例の占める割合の平均値で算出した人数、B は起因真菌別に重篤例の占める割合から算出した人数の和である。

参考

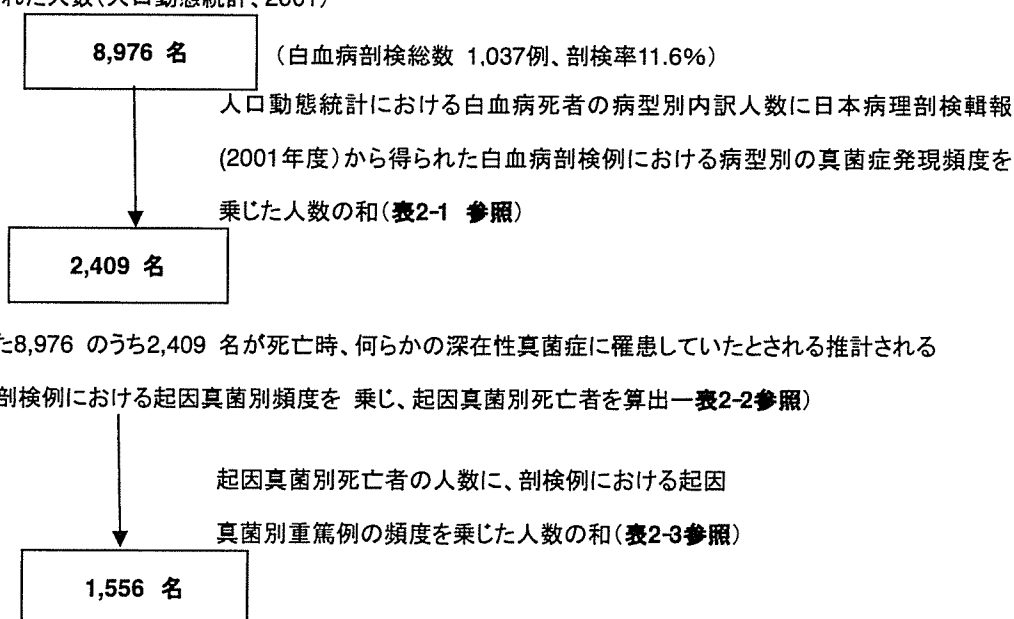
性別・死因(死因三桁基本分類)別死亡数(日本人口動態統計)

2001 年	真菌症	男	女	計
B35-B49	真菌症	418	247	665
B35	皮膚糸状菌症	0	0	0
B36	その他の表在性真菌症	0	0	0
B37	カンジダ症	91	74	165
B38	コクシジオイデス症	0	0	0
B39	ヒストプラズマ症	0	0	0

B40	プラストミセス症	0	0	0
B41	パラコクシジオイデス症	0	0	0
B42	スポトリコ-シス	0	0	0
B43	クロモミコーシス			
	フェオミコーシス性膿瘍	0	0	0
B44	アスペルギルス症	199	53	252
B45	クリプトコッカス症	11	15	26
B46	接合菌症	1	0	1
B47	菌腫	0	0	0
B48	その他の真菌症	0	0	0
B49	詳細不明の真菌症	116	105	221

2001 年度、人口動態統計に集計された真菌症による死亡者の起因真菌別人数。

白血病が死因とされた人数(人口動態統計、2001)



白血病が死因とされた8,976 のうち2,409 名が死亡時、何らかの深在性真菌症に罹患しており、そのうち1,556 名が真菌症が死因かまたは死因に真菌症が大きく関わっていた、と推計される。

図1. 白血病剖検例(病理剖検輯報,2001年度)の解析成績から得られた、人口動態統計(2001年度)に示された白血病死者に占める真菌症罹患患者数の推計

平成19年2月26日

厚生労働省健康危機管理調整官殿

健康危険情報について、下記のとおり通報する。

カナダ・ブリティッシュコロンビア州のバンクーバー島東岸地方における
病原真菌 *Cryptococcus gattii* のアウトブレイク情報

1. 通報者

- (1) 主任研究者氏名 上原至雅
(2) 研究課題名 厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生动向調査に関する研究
(3) 所属施設名 国立感染症研究所
(4) 連絡先 Tel 5285-1111(内線 2301)
Fax 5285-1175

2. 報告内容

(1) 健康危険情報

当地では、1999年以降現在までに、健常人を含む100名以上が感染し、6人が死亡。死亡者の年齢、健康状態などの背景は不明。2006年には、当地を観光で訪れ、1週間滞在したデンマーク人が帰国6週間後に発症(1)。分離された菌は当地でアウトブレイクした菌と一致(2, 3)。

人から人への感染はない。通常は亜熱帯地方（オーストラリアなどでの年間発症率は100万人当たり1症例）にみられるが、当地の2003年の発症率は100万人当たり37例に上る(3)。なぜこのような特定の地域に菌が生息しはじめたのかは調査中(2)。

本病への対処法：予防法は特になし。*Cryptococcus gattii*を含む塵埃などを吸入し感染。潜伏期は数週間から数ヶ月。肺炎または髄膜炎症状を示す。長期間続く咳、胸の痛み、頭痛、寝汗などの異常に気づいたら医師に相談すること。有効な抗真菌薬があり、早期診断・治療が肝腎。以上の点を考慮し、当地を訪れる旅行者に注意を喚起する必要あり。ブリティッシュコロンビア Centre for Disease Control ウェブサイトに、本件に関するQ&Aあり(4)。

(2) 情報源

（研究者名、学会発表、雑誌等の詳細について記述するとともに、必要なコピー等を添付）

1. Lindberg J, Hagen F, Laursen A, Stenderup J, Boekhout T. *Cryptococcus gattii* Risk for tourists visiting Vancouver Island, Canada. *Emerging Infectious Diseases* 2007 Jan 13 (1): 178-9.
2. Fraser JA, Giles SS, Wenink EC, Geunes-Boyer SG, Wright JR, Diezmann S, Allen A, Stajich JE, Dietrich FS, Perfect JR, Heitman J. Same-sex mating and the origin of the Vancouver Island *Cryptococcus gattii* outbreak. *Nature*. 2005 Oct 27;437(7063):1360-4.
3. Kidd SE, Hagen F, Tschärke RL, Huynh M, Bartlett KH, Fyfe M, Macdougall L, Boekhout T, Kwon-Chung KJ, Meyer W. A rare genotype of *Cryptococcus gattii* caused the cryptococcosis outbreak on Vancouver Island (British Columbia, Canada). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Dec 7;101(49):17258-63.
4. <http://www.bccdc.org/topic.php?item=109>

(3) その他 特になし

平成18年度厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

分担研究報告書

コクシジオイデス症およびヒストプラズマ症など輸入真菌症国内発生状況の調査、
肺結核疑診例に潜在するヒストプラズマ症のスクリーニングに関する研究、
およびヒストプラズマ症の血清診断法に関する研究

亀井 克彦 (千葉大学真菌医学研究センター) ----- 15

我が国の洞窟環境における *Histoplasma capsulatum* の分布調査

菊池 賢、佐々木 崇 (順天堂大学医学部感染制御科学)、
染谷 孝 (佐賀大学農学部生物環境学科)、浦田健作 (大阪経済
法科大学科学技術研究所) ----- 24

輸入真菌症および日和見真菌症の迅速診断法の開発

榎村 浩一 (帝京大学医真菌研究センター) ----- 29

病原糸状菌検出を目的とした Fluorescence in situ hybridization (FISH) 法の検討

篠崎 稔 (東邦大学医療センター大森病院病理部)
中山晴雄、渋谷和俊 (東邦大学医学部病院病理学講座) ----- 34

悪性腫瘍患者における深在性真菌症の頻度

上 昌広、久住英二 (東京大学医科学研究所) ----- 39

国内コウモリ・グアノの菌叢解析と新興感染症の診断法開発

杉田 隆 (明治薬科大学) ----- 43

真菌感染抵抗性の解析と治療の評価系の開発—真菌分子による好中球活性化—

鈴木 和男 (国立感染症研究所) ----- 48

真菌の病原性および薬剤耐性機構の解明

新見 昌一、上原 至雅 (国立感染症研究所) ----- 54

分担研究報告書

1. コクシジオイデス症およびヒストプラズマ症など輸入真菌症国内発生状況の調査
2. 肺結核疑診例に潜在するヒストプラズマ症のスクリーニングに関する研究
3. ヒストプラズマ症の血清診断法に関する研究

分担研究者 亀井克彦 千葉大学真菌医学研究センター 教授

研究要旨 輸入真菌症の国内発生状況の調査を行い、増加が続いていたコクシジオイデス症およびヒストプラズマ症症例数がその後も減少傾向を見せることなく安定化しつつあること、3年ぶりにパラコクシジオイデス症の発生が確認されたこと、また我が国で初めて起因菌を分離し得たマルネッフェイ型ペニシリウム症症例が見られたことなどを明らかにした。潜在的ヒストプラズマ症患者を検索する目的で行った結核疑診例の抗ヒストプラズマ抗体検査では、113 例中 9 名 (8.0%) が陽性を呈し、内 1 例で病理組織学的にヒストプラズマ症が確認された。またヒストプラズマ症診断法の開発について、新規抗原抽出法を確立し、得られた抽出物から新規抗原候補タンパク質の検索を行った。

1. 輸入真菌症の実態調査

A. 研究目的

我々のわが国の輸入真菌症の実態に関するこれまでの研究から、輸入真菌症の症例数は全体として増加傾向にあり、その中心がコクシジオイデス症およびヒストプラズマ症であること、コクシジオイデス症ではアリゾナにおける感染者が多かったことなどを示してきた。一方感染症法の対象となっているコクシジオイデス症以外の輸入真菌症では実態把握が困難であることなど懸念が大きく、引き続き実態調査が必要と考えられた。

B. 研究方法

症例は前回と同様の方法で収集した。すなわち当センターに対し真菌症のコンサルテーション、菌株の同定、抗体の測定などを目的として、主治医より情報が寄せられた症例、醫學中央雑誌、Medline などより報告症例を検索し、これを感染症法 4 類報告と照らし合わせて確認した。症例の内容に関しては、必要に応じて主治医に直接問い合わせを行ない詳細を確認した。

C. 研究成果 (図 1)

1) コクシジオイデス症

総症例数は 53 例となった。2006 年は 4 例が確認された。これはこれまでの最高症例数